实用饲料中补充铜对斑点叉尾鮰生长和体色的影响

万祖德[1] 李小勤[1] 高启平[2] 帅 柯[2] 陈佳楠[1] 徐怀兵[1] 冷向军[1,3,4,5*]

(1.上海海洋大学水产与生命学院，上海 201306；2.通威股份有限公司，成都 610041；3.上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室，上海 201306；4.上海市水产养殖工程技术研究中心，上海 201306；5.水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心，上海 201306）

摘 要：在实用饲料(含铜 11.1 mg/kg)中分别添加 0（对照）、5、10、20 和 40 mg/kg 铜[以五水硫酸铜（$CuSO_4 \cdot 5H_2O$）形式]，制成 5 种试验饲料，投喂平均体重为(98.1±0.5) g 的斑点叉尾鮰 42 d，研究实用饲料中补充铜对斑点叉尾鮰生长和体色的影响。每种饲料设 3 个重复，每个重复放养 20 尾鱼。结果表明：与对照组相比，饲料中添加 10 mg/kg 铜显著提高了鱼体的增重率（$P<0.05$），显著降低了饲料系数（$P<0.05$）；饲料铜添加量进一步增加到 40 mg/kg，则鱼体的增重率则较添加量为 10 mg/kg 时显著降低（$P<0.05$），饲料系数显著升高（$P<0.05$）。肝脏和骨骼铜含量随着饲料中铜添加量的增加而上升，其中 20、40 mg/kg 铜添加组的肝脏铜含量显著高于对照组和 5 mg/kg 铜添加组（$P<0.05$），40 mg/kg 铜添加组的骨骼铜含量也显著高于对照组（$P<0.05$），而肌肉铜含量保持基本不变（$P>0.05$）。饲料中添加 0~40 mg/kg 铜对斑点叉尾鮰背部皮肤、肌肉色度值、总叶黄素含量及背部皮肤酪氨酸酶活性均未产生显著影响($P>0.05$)。各组血清天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）活性和总胆红素（T-Bil）含量以及肌肉水分、粗蛋白质、粗脂肪及粗灰分含量无显著差异（$P>0.05$）。铜添加量为 10 mg/kg 组具有最高的血清铜-锌超氧化物歧化酶（Cu，Zn-SOD）活性，显著高于其他各组（$P<0.05$），而其他各组间则无显著差异（$P>0.05$）。综上，在本试验条件下，斑点叉尾鮰实用饲料中铜的添加量建议为 10 mg/kg(饲料总铜含量 20.2 mg/kg)。

关键词：斑点叉尾鮰；铜；生长；体色

中图分类号：S963 文献标识码：A 文章编号：

铜是鱼类所必需的一种微量元素，在机体生命活动中起着重要的作用。铜作为细胞色素 C 氧化酶（CCO）、单胺氧化酶（MAO）和铜-锌超氧化物歧化酶（Cu,Zn-SOD）等的辅助因子，参与造血、自由基防御、结缔组织生物合成、细胞呼吸等生理活动[1]。NRC(2011)[2]推

收稿日期：2015-07-16

基金项目：通威集团产学研合作项目（TW2014A004）

作者简介：万祖德（1991—），男，湖北武汉人，硕士研究生，研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail：wanzude1991@163.com

*通信作者：冷向军，教授，博士生导师，E-mail： xjleng@shou.edu.cn

荐的鲤鱼、斑点叉尾鮰、大西洋鲑等的铜需要量分别为 3、5、5~10 mg/kg。当饲料中缺乏铜时，会导致鲤鱼[3]、石斑鱼[4]生长缓慢，斑点叉尾鮰[5]心脏中细胞色素 C 氧化酶和超氧化物歧化酶的活性降低，此外，在患有冷水病（又称“Hitra 病”）的大西洋鲑肝脏中铜含量明显降低[6]。然而，摄入过量的铜也会降低鱼类的生长速度、饲料的利用效率，导致肝脏中铜积累量增加等[5,7-9]，水体中高浓度的铜则会导致鱼体体表如鳍条基部、尾部和鳃出血，肝胰脏坏死等症状[10]，但摄入过量的铜还未出现过这种中毒现象，这可能是由于肠道黏膜对有毒的金属起到了屏障作用[11]。

斑点叉尾鮰，亦称沟鲶，属于鲶形目鮰科鱼类，原产于北美洲，其生长快、食性广、肉质鲜美，由于肌肉中没有肌间刺，适合鱼片的生产加工，目前已成为我国重要的淡水养殖品种。近年来，在养殖生产中，斑点叉尾鮰时常出现体色异常的现象，其原因是多方面的。考虑到铜离子是酪氨酸酶的辅酶，而酪氨酸酶是调控黑色素生成的关键酶，养殖生产中出现的斑点叉尾鮰体色异常现象是否与铜的缺乏或过量有关？为此，本试验以斑点叉尾鮰为研究对象，在实用饲料中补充不同水平铜，考察铜对斑点叉尾鮰生长和体色的影响。

1 材料与方法

1.1 试验设计和试验饲料

以鱼粉、豆粕、菜籽粕、棉籽粕、次粉、麦麸等为主要原料配制粗蛋白质水平为 31%的实用型基础饲料，在基础饲料中分别添加 0（对照）、5、10、20 和 40 mg/kg 铜[以五水硫酸铜（$CuSO_4·5H_2O$）形式]，共制成 5 种试验饲料，试验饲料铜含量实测值分别为 11.1、16.0、20.2、28.9 和 44.2 mg/kg。饲料原料经粉碎过 40 目筛，充分混合混匀后，用膨化机（SLP-45，中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所研制）制粒[制粒温度为（110±5） ℃]形成直径 2 mm 的浮性膨化饲料，晾干后置于 4 ℃冰箱内保存备用。基础饲料组成及营养水平见表 1。

1.2 试验用鱼及饲养管理

养殖试验在上海海洋大学特种水产养殖基地进行，试验用鱼购于安徽巢湖水产养殖场，试验开始前用基础饲料驯养斑点叉尾鮰 1 周。挑选体格健壮、平均体重为(98.1±0.5) g 的 300 尾斑点叉尾鮰，随机分配于 15 口网箱（长 2.5 m，宽 1.2 m，高 1.0 m）中，网目大小为 5 mm×5 mm，网箱位于同一室内水泥池中，每组 3 个重复（网箱），每个重复放养 20 尾鱼。日投喂 3 次（08：00、12：00、17:00），投饲率为体重的 3%～5%，并根据鱼的生长情况和摄食情

况适当调整投饲量，各网箱基本保持一致的摄食水平。饲养期间，每 2 d 换水 1/3(水源为过滤后的池塘水)，水温 24～28 ℃，pH 7～8，溶氧浓度>6.0 mg/L，氨氮浓度<0.2 mg/L。养殖试验共进行 6 周。

表 1　基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)　　%

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients[1)]	
鱼粉 Fish meal	6.00
豆粕 Soybean meal	15.00
棉籽粕 Cottonseed meal	15.00
菜籽粕 Rapeseed meal	15.00
麦麸 Wheat bran	18.00
米糠 Rice bran	5.00
次粉 Wheat middling	20.91
豆油 Soybean oil	2.00
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	1.50
L-抗坏血酸-2-磷酸酯 *L*-ascorbate-2-monophosphate （35%）	0.05
肌醇 Inositol	0.04
维生素预混料 Vitamin premix[2)]	0.50
矿物质预混料 Mineral premix[3)]	0.50
氯化胆碱 Choline chloride (50%)	0.50
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels	
干物质 DM	88.79

粗蛋白质 CP	31.12
粗脂肪 EE	6.60
粗灰分 Ash	7.07

1) 配方中的饲料原料购自于上海农好饲料有限公司，其中鱼粉（秘鲁）、豆粕、菜籽粕和棉籽粕的粗蛋白质含量分别为 67.6%、46.5%、35.6%和 45.0%。The ingredients in formula were purchased from the *Shanghai Nonghao* Feed Co., Ltd., and the crude protein content of fish meal (Peru), soybean meal, rapeseed meal and cottonseed meal was 67.6%, 46.5%, 35.6% and 45.0%, respectively.

2) 维生素预混料为每千克饲料提供 The vitamin premix provided the following per kg of the diet：VA 6 000 IU，VD 2 000 IU，VE 50 IU，VK 5 mg，VB_1 15 mg，VB_2 15 mg，VB_3 30 mg，VB_5 35 mg，VB_6 6 mg，生物素 biotin 0.2 mg，叶酸 folic acid 3 mg，VB_{12} 0.03 mg。

3) 矿物质预混料为每千克饲料提供 The mineral premix provided the following per kg of the diet：$Ca(IO_3)_2$ 0.04 g，$CoCl_2·6H_2O$ 0.01 g，$FeSO_4·H_2O$ 0.446 g，$ZnSO_4·H_2O$ 0.232 g，$MnSO_4·H_2O$ 0.063 g，$Na_2SeO_3·5H_2O$ 0.01 g，$MgSO_4·7H_2O$ 0.645 g。

1.3 测定指标和方法

1.3.1 生长与形体指标计算

养殖试验结束后，鱼体饥饿 24 h，统计每口网箱内的鱼尾数并称总重，计算增重率（WGR）、饲料系数（FCR）、存活率（SR）；每个网箱随机取出 3 尾鱼，测量鱼体长和体重，解剖后称量其内脏重、肝脏重，计算肝体指数（HSI）、脏体指数（VSI）及肥满度（CF）。

增重率（%）=100×[（终末体重（g）–初始体重（g）]/初始体重（g）；

饲料系数=总投喂量（g）/[终末体重（g）–初始体重（g）]；

存活率（%）=100×终末鱼总数（尾）/初始鱼总数（尾）；

肝体指数（%）=100×肝脏重（g）/体重（g）；

脏体指数（%）=100×内脏重（g）/体重（g）；

肥满度（g/cm^3）=100×体重（g）/体长（cm）^{3}。

1.3.2 饲料、肌肉常规成分分析

养殖试验结束后，每口网箱随机取 3 尾鱼，取背鳍下方侧线以上的背部肌肉，置于-20 ℃冰箱中冻存，用于肌肉常规成分分析。饲料、肌肉样品水分含量的测定采用 105 ℃烘干失水

法（GB / T5009.3—2003）；粗蛋白质含量的测定采用凯氏定氮法(GB / T5009.5—2003)；粗脂肪含量的测定参照 Folch 等[12]的氯仿甲醇抽提法；粗灰分含量测定采用马福炉灰化法（GB / T5009.4—2003）。

1.3.3 皮肤、肌肉色度值测定

养殖试验结束后，随机从每口网箱取 3 尾鱼，用吸水纸将鱼体表面水分吸干，将色差计(WSC-S 型色差计，上海精密科学仪器有限公司物理光学仪器厂）的探头紧贴鱼体侧线以上的背部皮肤，测量背部皮肤色度值，之后剥去皮肤，将探头紧贴在侧线以上的背部肌肉上，测量肌肉色度值，记录亮度（L*）、红绿色（a*）、黄蓝色（b*）值。

1.3.4　皮肤、肌肉总叶黄素含量测定

上述皮肤、肌肉测定色度值后，各取 2～3 g，参考 Quackenbush 等[13]的分析法进行总叶黄素含量的测定，具体方法如下：将样品剪碎，装入 25 mL 棕色容量瓶中，加入 7.5 mL 提取液（正己烷：丙酮：无水乙醇：甲苯=10：7：6：7），塞上塞子旋转振摇 1 min，加入 1 mL 40%氢氧化钾-甲醇溶液，旋转摇匀 1 min，于 55.5 ℃水浴加热 20 min（注意冷却容量瓶颈部以防止溶剂损失），冷却样品，放置暗处 1 h，加入 7.5 mL 正己烷，旋转振摇 1 min，以 10%硫酸钠溶液定容至 25 mL，猛烈振摇 1 min，于暗处放置 1 h 后，将上层液用分光光度计于 474 nm 处测定其吸光度值，根据标准曲线计算其总叶黄素含量。

1.3.5　背部皮肤酪氨酸酶活性测定

取 1 g 左右背部皮肤，按 1:5 比例用 67 mmol/L pH 6.8 的磷酸缓冲液匀浆(冰水浴)，在 4 ℃下离心 25 min (8 000 r/min)，取上清液参照丁玉庭等[14]的方法测定其中酪氨酸酶活力，具体方法如下：取 3 mg/mL *L*-多巴 0.5 mL，加入 28 ℃预热的 2 mL 上述上清液，总反应体积为 2.5 mL，混合后立即室温下用分光光度计于 475 nm 处测定其吸光度值，10 min 后再次测定吸光度值。

酪氨酸酶活性按照下述公式计算：

$$酶活性（U）=\frac{\Delta OD_{475}}{0.001\times V\times T}。$$

式中：ΔOD_{475} 为 2 次测定吸光度值的差值，即 $\Delta OD_{475}=\Delta OD_{10}-\Delta OD_{0}$；$V$ 为样品体积；T 为 2 次测定间隔时间。

1.3.6　血清生化指标测定

养殖试验结束后，每口网箱随机取 3 尾鱼，尾静脉取血，离心（3 000 r/min，15 min），取血清于-80 ℃冷冻保存。分别测定血清天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）含量及总胆红素（T-Bil）含量，均采用迈瑞 BS-200 全自动生化分析仪测定。血清 Cu,Zn-SOD 活性的测定采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒进行测定。

1.3.7　组织（肌肉、肝脏、脊椎骨）铜含量测定

组织铜含量的测定参考张韵华[15]的方法，采用原子吸收法，具体方法如下：准确称取样品 1 g，置于坩埚中，先在电炉上炭化至不再冒烟为止，然后移入 550 ℃的马福炉中灰化 6 h；取出，冷却至室温，加入硝酸与高氯酸的混合酸（4：1）10 mL；放置 5 h 以上；然后在电炉上小心加热，使灰化样品溶解（黑色炭粒消失），直到溶液接近蒸干为止；用 1%的盐酸溶液溶解析出的晶体，再转移到 25 mL 的容量瓶定容、待测。以不加样品，用同样方法获得的试液作为空白对照。采用 TAS-900 原子吸收分光光度计（北京普析通用公司）测定铜含量。

1.4　数据分析

试验结果采用 SPSS 17.0 统计软件进行处理分析，数据以平均值±标准差（mean±SD）表示，采用单因素方差分析（one-way ANOVA），用 Duncan 氏进行多重比较，P<0.05 为差异显著。

2　结　果

2.1　生长指标及形体指标

经过 6 周的养殖，各组斑点叉尾鮰的生长与形体指标见表 2。随铜添加量的增加，斑点叉尾鮰的增重率表现出先增加后降低的趋势，其中 10 mg/kg 铜添加组的鱼体增重率显著高于对照组，同时饲料系数显著低于对照组（P<0.05）；40 mg/kg 铜添加组的终末体重、增重率均较 10 mg/kg 铜添加组显著降低（P<0.05），同时饲料系数较对照组显著升高（P<0.05）；各组存活率无显著差异（P<0.05），均为 100%。在形体指标方面，各组之间无显著差异（P>0.05）。

表 2　饲料中铜添加量对斑点叉尾鮰生长与形体指标的影响

Table 2　Effects of dietary copper supplemental level on growth and morphological indices of channel

catfish

项目	铜添加量 Copper supplemental level/(mg/kg)				
Items	0	5	10	20	40
初始体重 IBW/g	98.0±0.8	98.1±0.3	98.6±1.2	98.1±0.4	97.8±0.6
终末体重 FBW/g	217.7±4.7^{a}	218.5±2.1^{a}	229.8±4.2^{b}	223.3±3.9^{ab}	210.3±9.0^{a}
增重率 WGR/%	119.5±6.3^{a}	122.5±3.1^{a}	133.2±4.8^{b}	128.3±4.8^{ab}	115.0±8.3^{a}
饲料系数 FCR	1.37±0.06^{b}	1.33±0.03^{b}	1.22±0.04^{a}	1.31±0.04^{b}	1.43±0.11^{b}
存活率 SR/%	100	100	100	100	100
肝体指数 HSI/%	1.82±0.17	1.89±0.21	1.96±0.22	1.93±0.15	1.76±0.18
脏体指数 VSI/%	6.01±0.54	6.10±0.58	6.22±0.48	6.24±0.49	6.20±0.59
肥满度 CF/%	1.47±0.05	1.50±0.09	1.51±0.10	1.52±0.13	1.42±0.10

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著（P>0.05），不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05). The same as below.

2.2 肌肉常规成分

由表 3 可见，肌肉水分、粗蛋白质、粗脂肪及粗灰分含量在各组间无显著差异（P>0.05）。

表 3 饲料铜添加量对斑点叉尾鮰肌肉常规成分的影响(鲜重基础)

Table 3 Effects of dietary copper supplemental level on muscle conventional components of channel catfish （wet weight basis） %

项目	铜添加量 Copper supplemental level/(mg/kg)				
Items	0	5	10	20	40
水分 Moisture	76.74±0.91	77.10±0.67	76.68±0.81	76.27±0.95	76.84±0.93
粗蛋白质 CP	18.62±0.34	18.98±0.41	18.70±0.35	18.61±0.51	18.64±0.41
粗脂肪 EE	2.53±0.39	2.62±0.22	2.79±0.27	2.63±0.28	2.53±0.25
粗灰分 Ash	1.21±0.04	1.22±0.01	1.21±0.04	1.21±0.01	1.20±0.04

2.3 背部皮肤、肌肉色度值和总叶黄素含量及背部皮肤酪氨酸酶活性

由表 4 可见，各组背部皮肤、肌肉的色差值和总叶黄素含量及背部皮肤酪氨酸酶活性均无显著差异（*P*>0.05）。

表 4 饲料中铜添加量对背部皮肤、肌肉色度值和总叶黄素含量及背部皮肤酪氨酸酶活性的影响

Table 4 Effects of dietary copper supplemental level on chroma values and total xanthophylls content of dorsal skin, muscle and tyrosinase activity of dorsal skin

项目 Items		铜添加量 Copper supplemental level/(mg/kg) 0	5	10	20	40
背部皮肤 Dorsal skin	L*	20.48±2.60	19.35±1.94	21.38±2.26	21.28±1.99	21.43±1.66
	a*	3.53±1.20	3.10±1.31	2.67±0.71	2.50±0.83	2.11±0.63
	b*	2.48±0.73	2.02±1.09	2.72±1.21	2.44±0.5	2.02±0.91
	总叶黄素 Total xanthophylls	2.75±0.05	2.81±0.57	3.02±0.98	2.86±0.46	2.86±0.18
	酪氨酸酶 Tyrosinase	0.99±0.27	1.10±0.08	1.14±0.06	1.03±0.13	1.14±0.10
背部肌肉 Dorsal muscle	L*	50.76±2.68	50.72±2.81	51.68±2.59	51.61±2.73	49.37±2.44
	a*	3.59±0.89	4.54±0.96	4.22±0.93	3.96±1.01	3.42±1.13
	b*	3.50±0.99	4.08±1.48	4.49±0.68	3.91±1.16	4.13±0.98
	总叶黄素 Total xanthophylls/(mg/kg)	1.06±0.26	1.18±0.33	1.18±0.35	1.24±0.11	1.24±0.28

2.4 血清生化指标

由表 5 可见，各组血清 AST、ALT 活性和 T-Bil 含量无显著差异（*P*>0.05）；10 mg/kg

铜添加组具有最高的血清 Cu，Zn-SOD 活性，与其他各组差异显著（*P*<0.05），而其他组间则无显著差异（*P*>0.05）。

表 5　饲料中铜添加量对斑点叉尾鮰血清生化指标的影响

Table 5　Effects of dietary copper supplemental level on serum biochemical indices of channel catfish

项目	铜添加量 Copper supplemental level/(mg/kg)				
Items	0	5	10	20	40
天门冬氨酸氨基转移酶 AST/(U/L)	24.85±3.56	24.25±2.85	25.60±3.26	24.72±3.97	24.06±1.62
丙氨酸氨基转移酶 ALT/(U/L)	11.07±1.85	10.98±2.33	11.20±2.25	10.89±1.97	10.38±0.49
总胆红素 T-Bil/(μmol/L)	2.54±0.42	2.43±0.53	2.29±0.36	2.20±0.64	2.43±0.51
铜-锌超氧化物歧化酶 Cu,Zn-SOD/(U/mL)	58.02±1.83^{a}	56.00±2.14^{a}	64.01±3.72^{b}	55.56±2.97^{a}	56.37±2.71^{a}

2.5　组织铜含量

由表 6 可见，各组肌肉铜含量无显著差异（*P*>0.05）；肝脏、骨骼铜含量随饲料铜添加量的增加而增加，其中 20、40 mg/kg 铜添加组的肝脏铜含量显著高于对照组和 5 mg/kg 铜添加组（*P*<0.05），40 mg/kg 铜添加组的骨骼铜含量也显著高于对照组（*P*<0.05）。

表 6　饲料中铜添加量对斑点叉尾鮰组织铜含量的影响

Table 6　Effects of dietary copper supplemental level on tissue copper content of channel catfish

mg/kg

项目	铜添加量 Copper supplemental level/(mg/kg)				
Items	0	5	10	20	40
肌肉铜 Muscle copper	0.80±0.06	0.74±0.06	0.71±0.07	0.86±0.01	0.83±0.11
肝脏铜 Liver copper	3.46±0.04^{a}	3.46±0.15^{a}	3.56±0.21^{ab}	3.95±0.22^{b}	4.99±0.20^{c}
骨骼铜 Bone copper	2.04±0.29^{a}	2.42±0.25^{ab}	2.45±0.14^{ab}	2.45±0.03^{ab}	2.60±0.04^{b}

3　讨论

3.1　饲料中铜添加量对斑点叉尾鮰生长与形体指标的影响

Gatlin等[16]在精制饲料中添加不同水平铜，研究了(83±3) g斑点叉尾鮰对铜的需求量，结

果表明，当饲料中铜添加量大于4 mg/kg时，心脏细胞色素C氧化酶和超氧化物歧化酶活性显著高于铜添加量为0、2 mg/kg时，但生长指标无显著差异，从而推荐斑点叉尾鮰对饲料铜的最小需求量为5 mg/kg，这也是NRC(2011)中推荐的铜需求量标准。本试验中，当实用饲料中不添加铜时，斑点叉尾鮰的生长较慢，添加10 mg/kg铜时，显著提高了鱼体的生长性能，但当铜添加量为40 mg/kg时，鱼体生长性能则出现下降，同时当饲料铜添加量为10 mg/kg时血清Cu,Zn-SOD的活性最大。Cu,Zn-SOD是机体的一种抗氧化酶，可以保护细胞免受自由基的损害[17]。Wang等[18]用含不同铜含量(1.08、3.76、6.54、14.80、26.84和109.41 mg/kg)的饲料饲喂皱纹盘鲍24周，发现随着饲料铜含量的增加，肝脏、血清中Cu,Zn-SOD活性呈先增大后减小的趋势；在Gatlin等[16]对斑点叉尾鮰铜需求量的研究中，肝脏Cu,Zn-SOD的活性也呈现出随着饲料铜含量的增加先升高后减小的现象，类似的结果也见于种香玉等[19]对斑点叉尾鮰的研究和Lin等[20]对石斑鱼的研究。Lin等[4]认为，机体内游离的铜会破坏超氧化物歧化酶，这可能是采食高含量铜饲料导致鱼类血清Cu,Zn-SOD活性降低的原因。

根据生长试验的结果，本试验中，斑点叉尾鮰实用饲料中铜的适宜添加量为 10 mg/kg，此时饲料总铜含量为 20.2 mg/kg，远高于 NRC(2011)的推荐量。这可能是因为，在 Gatlin 等[16]的试验中，基础饲料是精制饲料(铜含量 0.89 mg/kg)，而在本试验中，基础饲料为实用饲料，虽含铜 11.1 mg/kg，但多以结合态存在，利用率低，不能满足生长所需，当饲料中添加10 mg/kg 无机铜后，则改善了生长性能，由于实用饲料中存在的植酸等抗营养因子，在一定程度影响了所添加的无机铜的利用，故导致了斑点叉尾鮰对实用饲料中铜的需求量高于NRC(2011)的推荐量。

Murai 等[20]分别以含铜 16 和 32 mg/kg 的饲料饲喂(14.5±1.4) g 的斑点叉尾鮰，16 周后增重率和饲料转化率显著降低，而 Gatlin 等[16]用含铜 40 mg/kg 的饲料饲喂(83±3) g 的斑点叉尾鮰，13 周并未出现明显的生长抑制现象。这可能与试验用鱼的大小不同有关，体重较轻的鱼，对高铜的耐受性也较低。虹鳟摄食含铜 700 mg/kg 的饲料后，出现生长减慢，其主要原因是高铜降低了其摄食量[21]；在大西洋鲑的试验中，高铜(35 mg/kg)饲料虽未降低采食量，但刺激了肠细胞，导致消化吸收能力减弱，从而降低了生长性能[22]。De Boeck 等[5]认为，高铜的摄入使得鲤鱼用于维持正常代谢所需的能量增加，而用于生长的能量减少，从而影响了生长。本试验中，当铜添加量为 40 mg/kg 时，斑点叉尾鮰的生长性能也表现出下降趋势，

但无明显中毒症状出现，采食量也没有受到显著影响，可能 40 mg/kg 的铜添加量尚不足以对斑点叉尾鮰产生典型的铜中毒现象。

Baker 等[23]用含铜 2 400 mg/kg 的饲料饲喂鲻鱼 10 周，发现肝体比和肥满度显著降低，这可能是高含量的铜导致肝脏损伤和萎缩，生长性能严重下降所致；用含铜 5~1 750 mg/kg 的饲料饲喂大西洋鲑 3 个月，只有在铜含量超过 900 mg/kg 时鱼体肥满度才出现显著降低[8]，这表明肥满度不是机体对饲料铜含量反应的一个敏感指标。本试验中，饲料中铜的添加范围为 0～40 mg/kg，远低于上述报道中的铜添加量，未观察到铜对斑点叉尾鮰形体指标的影响。

3.2 饲料中铜添加量对斑点叉尾鮰体色的影响

对胡子鲶的研究表明，随饲料铜添加量从 3.5 mg/kg 增加到 9.5 mg/kg，背部皮肤类胡萝卜素和叶黄素含量有增加的趋势[24]。本试验中，饲料中铜含量对斑点叉尾鮰背部皮肤、肌肉色度值和总叶黄素含量均没有产生显著影响。与前人研究出现不同结果的原因可能与这 2 种鱼在自然状态下具有不同的体色有关，斑点叉尾鮰体色通常是灰黑色，肌肉为白色，而胡子鲶体色多呈黄色、黄褐色。

生物体内黑色素的生成是以酪氨酸为底物，在酪氨酸酶的催化下，经过一系列复杂的生化反应完成的。诸葛燕等[25]认为鱼体的体色是黑色素和类胡卜素等色素综合表现的结果，其中黑色的深浅与酪氨酸酶活性直接相关。许兰娇等[26]用不同铜含量的饲料饲喂泰和乌骨鸡，发现组织中酪氨酸酶的活性随着饲粮中铜添加量的增加而表现出先升高后降低的趋势。在鱼类上，关于高铜对黑色素影响的研究甚少。本试验在饲料中添加 0~40 mg/kg 的铜，未对斑点叉尾鮰背部皮肤中酪氨酸酶的活性产生显著影响。

3.3 饲料中铜添加量对斑点叉尾鮰血清生化指标的影响

ALT、AST、T-Bil 是临床上最常用的判断肝功能的指标，血清 ALT 和 AST 活性主要反映肝细胞的受损程度，血清 T-Bill 含量主要反映肝胆排泄、分泌及解毒功能[27]。用含铜 50~500 mg/kg 的饲料饲喂许氏平鲉，在 30 d 的时间内血清 AST 和 ALT 活性未出现显著变化，但 60 d 后 AST 和 ALT 活性均显著增加[28]。鲤鱼摄食含铜 250~1 000 mg/kg 的饲料 60 d 后，血清 AST 和 ALT 活性也显著增加[29]。本试验中，斑点叉尾鮰血清 AST、ALT 活性及 T-Bill 不受饲料铜添加粮的影响，可能与铜添加量不高和试验周期不长有关。

3.4 饲料中铜添加量对斑点叉尾鮰组织中铜含量的影响

Lorentze 等[30]认为，肝脏中铜的蓄积量是评价机体铜状况最敏感的指标。用含铜 5、35、700 mg/kg 饲料饲喂大西洋鲑 4 周，发现肝脏铜含量显著升高[23]；在鲤鱼的研究中，肝脏铜含量随饲料铜含量（0～1 000 mg/kg）的增加而增加，而肌肉铜含量只有在饲料铜含量达到 500 mg/kg 后才显著升高[29]；De Boeck 等[5]在鲤鱼上也有类似报道；此外，乔永刚[31]对军曹鱼的研究发现，铜在骨骼中的沉积随饲料铜含量的增加而增加。本试验中，肝脏、骨骼铜含量随饲料铜添加量的增加而增加，但肌肉铜含量则保持基本稳定。

4 结 论

本试验条件下，在实用饲料中添加 0~40 mg/kg 铜，对斑点叉尾鮰体色和肉色以及肌肉铜含量未产生显著影响，肝脏、骨骼铜含量随着铜添加量增加而增加；当饲料中铜添加量为 10 mg/kg 时，可显著提高斑点叉尾鮰的增重率，降低饲料系数，且具有最高的血清 Cu,Zn-SOD 活性。因此，斑点叉尾鮰实用饲料中铜的添加量建议为 10 mg/kg(饲料总铜含量为 20.2 mg/kg)。

参考文献：

[1] 姜云霞.微量元素铜的研究进展及其对动物健康的影响[J].微量元素与健康研究,2007,24(5):58–61.

[2] NRC.Nutrient requirements of fish and shrimp[S].Washington,D.C.:National Academy Press,2011.

[3] OGINO C,YANG G Y.Requirements of carp and rainbow trout for dietary manganese and copper[J].Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries,1980,46(4):455–458.

[4] LIN Y H,SHIE Y Y,SHIAU S Y.Dietary copper requirements of juvenile grouper,*Epinephelus malabaricus*[J].Aquaculture,2008,274(1):161–165.

[5] DE BOECK G,VLAEMINCK A,BLUST R.Effects of sublethal copper exposure on copper accumulation,food consumption,growth,energy stores,and nucleic acid content in common carp[J].Archives of Environmental Contamination and Toxicology,1997,33(4):415–422.

[6] POPPE,T T,HÅSTEIN T,FRØSLIE A,et al.Nutritional aspects of haemorrhagic syndrome (‘Hitra disease’) in farmed Atlantic salmon,*Salmo salar*[J].Diseases of Aquatic Organisms,1986,1(3):152–162.

[7] SHAW B J,HANDY R D.Dietary copper exposure and recovery in Nile tilapia,*Oreochromis niloticus*[J].Aquatic Toxicology,2006,76(2):111–121.

[8] BERNTSSEN M H G,LUNDEBYE A K,MAAGE A.Effects of elevated dietary copper concentrations on growth,feed utilisation and nutritional status of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry[J].Aquaculture,1999,174(1/2):167–181.

[9] LANNO R P,SLINGER S J,HILTON J W.Maximum tolerable and toxicity levels of dietary copper in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson)[J].Aquaculture,1985,49(3/4):257–268.

[10] 黄斌,别立洁.铜(Cu^{2+})对麦穗鱼苗的急性毒性与非生物因子的相关性研究[J].淡水渔业,2006,36(2):34–38.

[11] HANDY R D.The effect of acute exposure to dietary Cd and Cu on organ toxicant concentrations in rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss*[J].Aquatic Toxicology,1993,27(1/2):1–14.

[12] FOLCH J,LEES M,SLOANE STANLEY G H.A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J].The Journal of Biological Chemistry,1957,226(1):497–509.

[13] QUACKENBUSH F W,MILLER S L.Composition and analysis of the carotenoids in marigold petals[J].Journal-Association of Official Analytical Chemists,1972,55(3):617–621.

[14] 丁玉庭,杨更生.外加因子对黑豚皮酪氨酸酶活性的影响[J].食品科学,1999,20(4):12–14.

[15] 张韵华.原子吸收法测定重金属的预处理方法讨论[J].云南环境科学,2004,23(增刊):213–214.

[16] GATLIN D M,WILSON R P.Dietary copper requirement of fingerling channel catfish[J].Aquaculture,1986,54(4):277–285.

[17] FANG Y Z,YANG S,WU G Y.Free radicals,antioxidants,and nutrition[J].Nutrition,2002,18(10):872–879.

[18] WANG W F,MAI K S,ZHANG W B,et al.Effects of dietary copper on survival,growth and immune response of juvenile abalone,*Haliotis discus hannai* Ino[J].Aquaculture,2009,297(1/2/3/4):122–127.

[19] 种香玉,周立志,韩冬,等.饲料中铜浓度对异育银鲫和斑点叉尾鮰的影响[J].水生生物学

报,2014,38(4):751–763.

[20] MURAI T,ANDREWS J W,SMITH R G,Jr.Effects of dietary copper on channel catfish[J].Aquaculture,1981,22:353–357.

[21] LANNO R P,SLINGER S J,HILTON J W.Effect of ascorbic acid on dietary copper toxicity in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson)[J].Aquaculture,1985,49(3/4):269–287.

[22] BERNTSSEN M H G,HYLLAND K,BONGA S E W,et al.Toxic levels of dietary copper in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr[J].Aquatic Toxicology,1999,46(2):87–99.

[23] BAKER R T M,HANDY R D,DAVIES S J,et al.Chronic dietary exposure to copper affects growth,tissue lipid peroxidation,and metal composition of the grey mullet,*Chelon labrosus*[J].Marine Environmental Research,1998,45(4/5):357–365.

[24] 唐精,叶元土.四种微量元素对胡子鲶体表色素含量的影响[J].饲料工业,2007,28(24):27–30.

[25] 诸葛燕,叶元土,高艳玲,等.七种淡水鱼类色素含量和酪氨酸酶活力的比较研究[J].上海海洋大学学报,2007,16(5):431–436.

[26] 许兰娇,万根,黎观红,等.饲粮铜添加水平对9～12周龄泰和乌骨鸡生产性能及组织黑色素含量的影响[J].动物营养学报,2014,26(4):1061–1067.

[27] 罗育春,陈大兰.肝硬化患者血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶和总胆红素与肝纤维化标志物的相关性研究[J].实用预防医学,2011,18(8):1542–1544.

[28] KIM S G,KANG J C.Effect of dietary copper exposure on accumulation,growth and hematological parameters of the juvenile rockfish,*Sebastes schlegeli*[J].Marine Environmental Research,2004,58(1):65–68.

[29] AL-AKEL A S,AL-BALAWI H F A,AL-MISNED F,et al.Effects of dietary copper exposure on accumulation,growth,and hematological parameters in *Cyprinus carpio*[J].Toxicological and Environmental Chemistry,2010,92(10):1865–1878.

[31] LORENTZEN M,MAAGE A,JULSHAMN K.Supplementing copper to a fish meal based diet fed to Atlantic salmon parr affects liver copper and selenium concentrations[J].Aquaculture Nutrition,1998,4(1):67–72.

[31] 乔永刚.军曹鱼微量元素锌、铁、铜营养生理的研究[D].博士学位论文.青岛:中国海洋大学,2007:69–81.

Effects of Practical Diet with Copper on Growth and Body Color of Channel Catfish

WAN Zude[1] LI Xiaoqin[1] GAO Qipin[2] SHUAI Ke[2] CHEN Jianan[1] XU Huaibin[1] LENG Xiangjun[1,3,4,5*]

(1. *College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai* 201306, *China;* 2. *Tongwei Co., Ltd., Chengdu* 610041, *China;* 3. *Key Laboratory of Freshwater Fishery Germplasm Resources, Ministry of Aquaculture, Shanghai* 201306, *China;* 4. *Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai* 201306, *China;* 5. *Shanghai Collaborative Innovation Collaborative Innovation center for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai* 201306, *China*)

Abstract: In the present study, copper (Cu, as the form of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) with the levels of 0（control）, 5, 10, 15, or 20 mg/kg were supplemented in a practical diet which contained 11.1 mg/kg Cu to formulate five experimental diets to evaluate the effects of practical diet with Cu on growth and body color of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). The five experimental diets were fed to channel catfish with the average body weight of（98.1±0.5） g for 42 d. Each diet had 3 replicates, and each replicate had 20 fish. The results showed that weight gain rate was significantly increased and feed conversion ratio was significantly decreased by the supplementation of 10 mg/kg Cu when compared with control group (P<0.05), but with the copper supplemental level increaseed to 40 mg/kg, the weight gain rate was significantly decreased and the feed conversion ratio was significantly increased compared with 10 mg/kg group (P<0.05). The copper content in liver and bone was increased with the increase of dietary copper supplemental level, the liver copper content in 20 and 40 mg/kg groups was significantly higher than that in control group and 5 mg/kg group （P<0.05）, and the bone copper content in 40 mg/kg group was significantly higher than that in control group（P<0.05）, while the muscle copper content showed no significant difference among all groups (P>0.05). The chroma values and total xanthophylls

*Corresponding author, professor, E-mail: xjleng@shou.edu.cn (责任编辑 菅景颖)

content of dorsal skin, muscle and tyrosinase activity of dorsal skin of channel catfish were not significantly affected by 0 to 40 mg/kg copper supplementation （$P>0.05$). Serum aspartate aminotransferase (AST), alannine aminotransferase (ALT) activities and total bilirubin (T-Bil) content, and muscle moisture, crude protein, ether extract and ash contents were not significantly different among all groups ($P>0.05$). The activity of serum Cu-Zn superoxide dismutase in 10 mg/kg group was the highest, and significantly higher than that in other groups （$P<0.05$）, but no no significant difference was found in other groups ($P>0.05$). Based on results above, the optimal copper supplementation in the practical diet is suggested to be 10 mg/kg for channel catfish under this experimental conditions, and the dietary total copper content is 20.2 mg/kg.

Key words: channel catfish; copper; growth; body color